LES ENZYMES

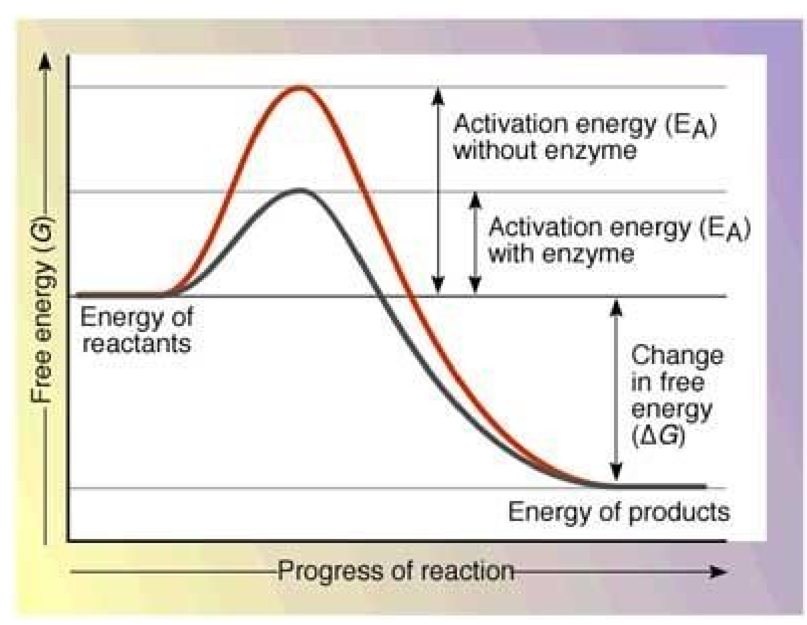
PRINCIPE DES ENZYMES :

Nécessité des enzymes :

- Organismes vivants sont le siège d'un grand nombre de réactions biochimiques très diverses
- Réactions s'effectuent dans des conditions « douces » où elles seraient normalement très lente
- Les réactions ont lieu parce qu'elles sont catalysées par des macromolécules biologiques (= er
- Réactions ne ce font pas à moins qu'on leur fournisse une source de chaleur ou des catalyseur
- Enzyme est une protéine qui agit comme catalyseur biochimique, un agent qui change la vites réaction mais qui ne change pas avec la réaction

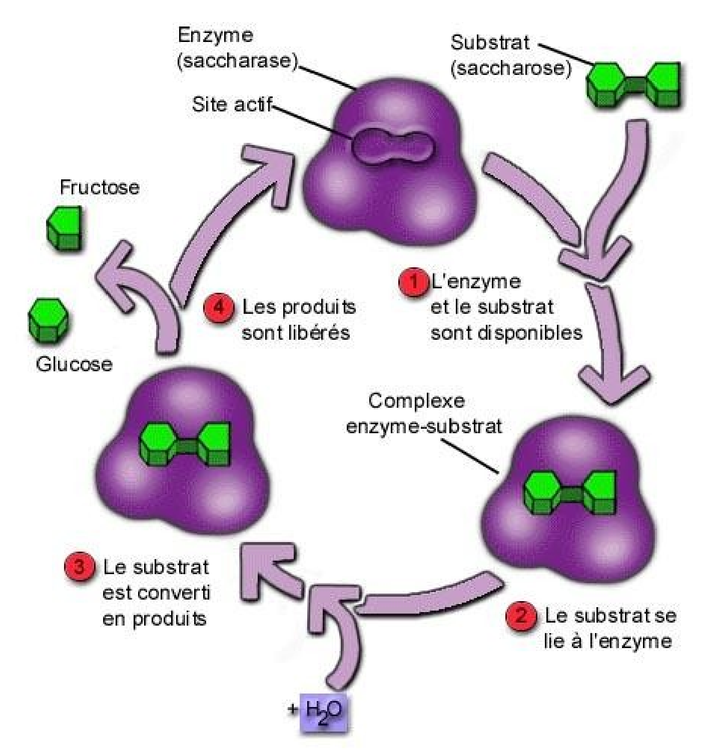
Mécanismes de la catalyse enzymatique :

- Enzyme accélère la réaction sans modifier l'état d'équilibre
- Enzymes abaissent l'énergie d'activation du substrat (énergie qui doit être absorbée par les ré que leur liaisons soient brisées)
- Étapes de la catalyse :
  - formation d'un complexe enzyme-substrat (spécificité d'un substrat par des interactions/adaptations réciproques via des liaisons de faible énergie)
  - puis transformation du substrat en produit, libéré avec l'enzyme
- État de transition :
  - état instable atteint par les réactifs dans lequel les liaisons sont plus faciles à briser
  - enzyme stabilise aussi l'état de transition
  - atteint en ajoutant de l'énergie thermique de l'environnement ce qui stimule les collis les molécules de réactifs
  - barrière essentielle qui prévient la dégradation spontanée de macromolécules cellulai en énergie (graisses, protéines, polysaccharides)
  - état de transition doit toujours être atteint pour que le métabolisme se fasse
- Énergie d'activation :
  - chaleur (source d'énergie d'activation) serait nocive à la cellule et toutes les réaction tout le temps sans contrôle (d'où une régulation fine de la température)
  - enzymes abaissent l'énergie d'activation pour des réactions spécifiques pour que ces puissent se faire à la température normale de la cellule



http://163.16.28.248/bio/activelearner/

- Formation d'un complexe enzyme-substrat :
    - structure des enzymes est complémentaire de celle des complexes qu'ils catalysent
    - quand le substrat est lié, l'enzyme change de forme pour adopter sa forme induite qu
    sa capacité de catalyser la réaction
    - spécificité pour un substrat particulier est déterminée par la forme unique de chaque
    - substrat se lie temporairement sur le site actif de l'enzyme (« sillon ») par des liaisons
    hydrogènes ou covalents et forme le complexe enzyme-substrat (ES)
    - efficacité de la catalyse enzymatique repose sur l'affinité de l'enzyme pour ses substr
    les états de transition



http://www.ustboniface.mb.ca

- Cycle de conversion rapide, un enzyme peut catalyser 10^3 à 10^{17} réactions par seconde

CINÉTIQUE CHIMIQUE :

Cinétique descriptive :

- ΔG^0 informe sur la possibilité pour une réaction de se dérouler mais ne donne aucune indication
  vitesse ou le mécanisme de la réaction
- $= -\frac{d*+}{dt} = \frac{d*+}{dt}$
- itesse d'une réaction dépend de l'énergie d'activation, de la température et de la concentratio
  réactifs : v = k.f(concentrations A et B)
- Vitesse des transformations augmente quand on augmente la température
- Loi d'Arrhenius : « une réaction nécessite un amorçage »
    - $k = A.\exp(-E_A/RT)$
    - A est le facteur de fréquence = facteur pré-exponentiel

Ordre des réactions :

- Ordre d'une réaction décrit les variations de la vitesse en fonction de la concentration des réac
- Réaction a un ordre si $v = k[A]^\alpha[B]^\beta$
- Réaction n'ont pas toujours un ordre
- L'étape limitante impose son ordre

- Étude en fonction de concentrations : donne l'ordre partiel pour chacun des réactifs
- Étude en fonction du temps : donne l'ordre total de la réaction
  - ordre 0 : $[A] = [A]_0 - kt$
    $t_{1/2} = [A]_0 / 2k$
  - ordre 1 : $[A] = [A]_0 \exp(- kt)$
    $t_{1/2} = \ln 2 / k$

Modèle de Michaelis et Menten :

- Explique la relation hyperbolique entre la concentration en substrat et la vitesse de la réaction

$$E + S \underset{k_{-1}}{\overset{k_1}{\rightleftharpoons}} ES \xrightarrow{k_2} P + E$$

- Vitesse de réaction : $V = k_2 [ES]$
- Vitesse de formation de ES = $k_1 [E] [S]$
- Vitesse de dissociation de ES = $(k_{-1} + k_2) [ES]$
- A l'état stationnaire : $[ES]$ = constante = $([E] [S]) / K_M$
- $K_M = (k_{-1} + k_2) / k_1$ représente l'inverse de l'affinité du substrat pour son enzyme
- Vitesse en fonction de [S] :
  - si $[S] << K_M$ alors $V = (V_{MAX} [S]) / K_M$
  - si $[S] = K_M$ alors $V = V_{MAX} / 2$
  - si $[S] >> K_M$ alors $V = V_{MAX}$
- Si on augmente la quantité d'enzyme V_{MAX} augmente et K_M est constant
- Mesure de l'efficacité catalytique : $k_{CAT} = V_{MAX} / [Et]$ avec $[Et] = [E] + [ES]$
  - k_{CAT} est une constante de vitesse du premier ordre (en s^{-1})
  - c'est la fréquence à laquelle l'enzyme établit l'acte catalytique lorsqu'il est saturé par
  - $1 / k_{CAT}$ est la durée de l'acte catalytique

Facteurs influençant la vitesse de réaction :

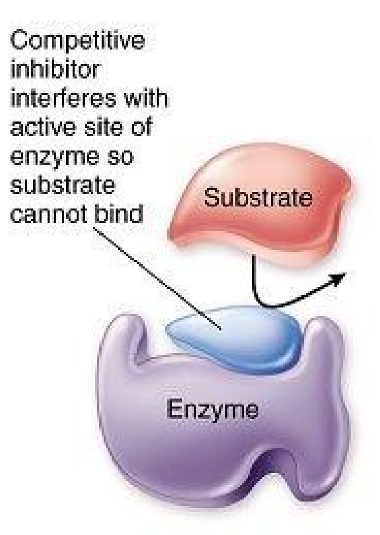
- pH et la force ionique : fixation du substrat entraine la mise en jeu d'AA polaires
  - enzyme possède un pH optimum (2 pour la pepsine actine dans le suc gastrique, 6 po trypsine qui agit dans l'intestin grêle et entre 4 et 6 pour le lysozyme présent dans les
  - changement de pH perturbe très sérieusement le métabolisme
  - protection primaire assurée par les systèmes tampons :
    - pour le milieu intracellulaire : système phosphate et système histidine
    - pour les fluides extracellulaires : système bicarbonate/acide carbonique
- Température : agit soit en augmentant la vitesse de réaction (loi d'Arrhenius) ou soit en déstab structure de l'enzyme
  - optimum de température, 37°C en général
  - existence de mécanismes de maintien de la température corporelle sophistiqués
- Cofacteurs : souvent indispensables pour le déroulement de la réaction
  - rôle essentiel dans le site actif
  - souvent issus des vitamines (carence provoque des maladies)
  - coenzymes ou métal sous forme ionique

Inhibition enzymatique :

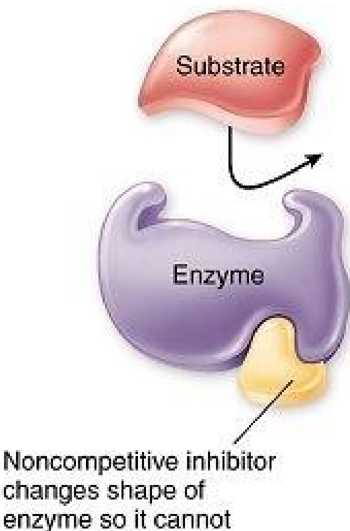
- La plupart des enzymes peuvent être inhibés
- Nombreux médicaments ou toxiques agissent comme inhibiteurs
- Analogues de l'état de transition sont d'excellents inhibiteurs
- Inhibition irréversible : par liaison covalente ou très forte (cas de la pénicilline et de l'aspirine)
  - aspirine inhibe la cyclo-oxygénase (rôle dans l'inflammation)
- Inhibition réversible : dissociation rapide du complexe enzyme/inhibiteur
  - inhibition compétitive : pas de complexe ESI
    - I ressemble à   et l'empêche de se fixe (prend sa place sur E)

- diminution de [ES]
- augmentation de K_M et V_{MAX} constante
- levée par augmentation de S

- inhibition non compétitive : I se fixe sur E avant ou après la fixation de S
    - I ne prend pas la place de S sur E
    - I induit un changement de conformation de E
    - K_M constant et V_{MAX} diminue
    - pas levée par une augmentation de S



(a) Competitive inhibition



(b) Noncompetitive inhibition

http://blog.dearbornschools.org

RÉGULATION DES ENZYMES ET DU MÉTABOLISME

Isoenzymes :

- Issus de gènes différents
- Exprimés dans des cellules, tissus et à des temps différents
- Catalysent la même réaction
- Pas les mêmes attributs (mode de régulation, spécificité de substrat)
- Exemple de la lactate-D-désoxygénase

Régulation des enzymes :

- Activation par protéolyse limitée : exemple de la chymotrypsine et des zymogènes
- Activation par fixation d'une protéine régulatrice : mutation de type Z de l'α1-antitrypsine chez à l'origine d'emphysèmes
- Contrôle par modification covalente : par acétylation, myristilation, γ-carboxylation, ubiquitinat
    - par phosphorylation +++
        - transfert de groupe phosphate γ de l'AT sur un OH sérine, thréonine ou tyrosin
        - ajoute 2 charges négatives et 3 liaisons hydrogènes
        - modifie la constante d'équilibre (+ 24 kJ/mol)
        - amplification par cascade de protéines kinases
- Régulation allostérique : existence d'un site, autre que le site catalytique, qui peut fixer un liga allostérique de façon réversible
    - structure quaternaire
    - comportement non michaélien
    - changement conformationnel sans perte d'activité
    - fonction régulatrice dans le métabolisme

- 2 classes de systèmes allostérique : système K et système V
- états « tense » (T, avec K_M fort) et « relapse » (R, avec K_M faible)
- fixation du substrat favorise la transition vers l'état R
- fixation de régulateurs favorise un état plutôt qu'un autre

- Contrôle transcriptionnel

Exemple de la régulation des réserves en glucides :

- Glucose est la principale source d'énergie dans la cellule
- Glucose stocké dans différents types de cellules (foie, muscle)
- Stockage du glucose sous forme polymérisée = glycogène
- Glycogène transformé en glucose par une phosphorylase
- Régulation de l'activité de la phosphorylase :
  - en fonction des besoins de la cellule, des organes ou de l'organisme
  - effecteurs allostériques
  - modifications post-traductionnelles (phosphorylation, adrénaline, glucagon…)
- Muscle utilise l'énergie pour lui-même, fois maintient l'homéostasie du glucose pour l'organism
- Deux types de phosphorylase : a et b
- Dans le muscle : objectif = fournir du G6 au muscle au cours de l'effort
  - au repos : majorité de phosphorylase b inactive
  - au début de l'exercice : activation de la forme b par AMP
  - prolongation de l'exercice : libération d'adrénaline et généralisation de la forme a plei active
  - excès de G6P entraine un retour à la forme T
- Dans le foie : objectif = maintenir la glycémie
  - 90% de similarité avec la phosphorylase musculaire
  - sensible à la transition entre état R et T
  - transition vers T par fixation de glucose
  - insensible à l'AM
  - hépatocytes peu soumis aux variations de charge énergétique
  - intérêt des isoenzymes